

Физико-химические свойства просом листьев дурмана (*Datura stramonium* L.), пораженных X-вирусом картофеля

Н. И. Пархоменко*, Л. Ф. Диденко, Л. А. Максименко

Институт микробиологии и вирусологии им. Д. К. Заболотного НАН Украины
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 154

Изолированы низкомолекулярные РНП, или просомы, с коэффициентом седиментации 19 и 10 S, которые обнаруживаются только в свободных цитоплазматических мРНП и отсутствуют в мРНП полисом. Молекулярная масса просом 19 S равняется 700—800, просом 10 S — 400 кДа. Значение плавучей плотности выделенных структур в преформированном градиенте концентрации Cs_2SO_4 соответствует $1,31 \text{ г/см}^3$. Из просом выделена низкомолекулярная РНК (4 S) и определен белковый состав просом из здоровых и инфицированных X-вирусом картофеля растений.

Введение. В составе свободных цитоплазматических мРНП (информосом) содержатся низкомолекулярные РНП, или просомы, которым отводится значительная роль в ингибировании синтеза белков на уровне трансляции. Избирательная репрессия цитоплазматических мРНП, индуцированная низкомолекулярными РНП с коэффициентом седиментации 19 S, является достоверно установленным феноменом, механизм которого недостаточно выяснен [1—4].

Малые РНП-частицы (просомы) характеризуются стабильной структурной организацией, в которой низкомолекулярная РНК связана с определенным набором белков. Возможно, биологическая функция этих частиц состоит в ингибировании матричной активности информационных РНК.

Поскольку выяснение регуляторных механизмов синтеза белка в клетке представляет собой одну из важнейших проблем молекулярной биологии, изучение физико-химических свойств просом и их структурных особенностей может служить основой для выяснения механизма регуляции синтеза вирусспецифических белков в системах *in vivo* и *in vitro*.

Материалы и методы. Низкомолекулярные РНП (просомы) изолировали из свободных цитоплазматических и полисомосвязанных мРНП. Полисомные и свободные цитоплазматические мРНП выделяли по методу [5] с некоторыми модификациями. Листья дурмана, МОК-инокулированные и пораженные X-вирусом картофеля (ХВК), промывали в проточной воде, просушивали и гомогенизировали в жидком азоте. Полученный гомогенат экстрагировали буфером, содержащим: 0,2 М трис-НСl («Serva», ФРГ), рН 9,0, 0,4 М КСl (хч), 0,2 М сахарозу («Serva»), 0,035 М $MgCl_2$ («Serva») и 1 %-й 2-меркаптоэтанол («Ferak», ФРГ). (Этот буферный раствор и все последующие готовили на деионизированной воде.) Полученную смесь

*Correspondence address.

фильтровали через капроновое полотно и центрифугировали (10000·g) в течение 15 мин. Супернатант инкубировали с тритоном X-100 (конечная концентрация 2 %) в течение 20 мин при 4 °С. Затем смесь наносили на слой 1,5 М сахарозы, приготовленной на буфере, содержащем 0,04 М трис-НСl, рН 9,0, 0,2 М КСl, 0,03 М MgCl₂. Центрифугировали в течение 20 ч при 27000 об/мин в роторе SW 28 («Beckman», США). Отбирали зону над сахарозной подслоем, где концентрировались свободные цитоплазматические мРНК (информосомы), а полисомы находились в осадке. мРНК полисом получали по методу [6]. Затем свободные цитоплазматические мРНК и мРНК полисом осаждали центрифугированием в роторе SW 55 («Beckman») в течение 4 ч при 45000 об/мин и 4 °С. Полисомсвязанные и отдельно свободные цитоплазматические мРНК гомогенизировали в буфере: 0,02 М триэтанолламин-НСl, рН 7,4, 0,05 М ЭДТА («Serva»), 0,025 М КСl [6] и наслаивали на 15—30 %-й линейный градиент с 2 мл 64 %-й сахарозной подслоем, приготовленной на буфере 0,02 М триэтанолламин-НСl, рН 7,8, 0,02 М КСl и 0,01 М MgCl₂, и центрифугировали при 4 °С и 26000 об/мин в течение 7 ч [7]. Отобранные фракции исследовали с помощью спектрофотометрии и определяли плавучую плотность изолированных структур [8]. Свободные цитоплазматические и полисомсвязанные мРНК использовали для выделения просом по методу [3]. Для этого свободные цитоплазматические и полисомные мРНК в концентрации 25 опт. ед. наносили на 10—25 %-й линейный сахарозный градиент, приготовленный на буфере I (0,01 М триэтанолламин-НСl, рН 7,4, 0,05 М КСl, 0,007 М 2-меркаптоэтанол), и центрифугировали при 22000 об/мин в течение 19 ч при 4 °С. Фракции анализировали на спектрофотометре DU-88 («Beckman») и те, что соответствовали пику поглощения при длине волны 260 нм, отбирали и осаждали центрифугированием при 48000 об/мин в течение 18 ч при 4 °С. Затем осадок информосом гомогенизировали в буфере II (0,01 М триэтанолламин-НСl, рН 7,4, 0,5 М КСl, 0,007 М 2-меркаптоэтанол) и в концентрации 5—10 опт. ед. наносили на 10—50 %-й линейный градиент, приготовленный на этом же буфере. Центрифугировали в роторе SW 40 («Beckman») при 36000 об/мин в течение 18 ч при 4 °С. Затем фракции РНП (объемом 0,5 мл) отбирали и анализировали каждую на спектрофотометре. Фракции с максимумом поглощения при длине волны 260 нм объединяли и концентрировали центрифугированием при 48000 об/мин в течение 18 ч при 4 °С. Полученный осадок РНП растворяли в детергентном буфере (0,02 М триэтанолламин-НСl, рН 7,4, 1 %-й (конечная концентрация) лаурилсаркозинат натрия («Serva»), 0,007 М 2-меркаптоэтанол), затем смесь в концентрации 2—5 опт. ед. наносили на 10—50 %-й линейный градиент, приготовленный на детергентном буфере, и центрифугировали в течение 18 ч при 36000 об/мин в роторе SW 40 («Beckman») при 4 °С. В этих условиях оставались наиболее устойчивые к действию детергента низкомолекулярные частицы РНП (просомы) [3]. Фракции, имеющие пик поглощения в ультрафиолете при длине волны 260 нм, отбирали и полученный материал сохраняли в жидком азоте.

Для определения плавучей плотности просом использовали преформированный градиент Cs₂SO₄ DMSO (1,5 мл 50 %-го Cs₂SO₄ (w/w) и 2,0 мл 15 %-го Cs₂SO₄ (w/w)), приготовленный на буфере: 0,02 М триэтанолламин-НСl, рН 7,4, 0,01 М КСl, 0,01 %-й тритон X-100 и 15 %-й (v/v) DMSO [3]. Центрифугировали в роторе SW 55 («Beckman») в течение 18 ч при 45000 об/мин и 20 °С. Отбирали фракции по 200 мкл, в каждой из них на рефрактометре определяли коэффициент преломления и рассчитывали значение плотности по формуле [9, 10]

$$\rho = D \cdot 12,120 - 15,166,$$

где D — рефрактометрический индекс Cs₂SO₄, исправлен до добавочной

рефракции, обусловленной компонентами буферного раствора. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-24. На основании полученных данных строили график, по которому регистрировали значение плавучей плотности.

Плавучую плотность просом в CsCl определяли по методу Белициной с соавт. [11]. Расчет производили по формуле [10]

$$\rho = D \cdot 10,8601 - 13,4979.$$

Седиментационную характеристику очищенных просом представляли с помощью метода аналитического центрифугирования с применением шлирен оптики. Исследуемый материал помещали в кювету центрифуги MOM 3170-B и центрифугировали при 48000 об/мин в течение 4 ч при 20 °С. На полученных седиментограммах с помощью микрокомпаратора измеряли расстояние от вершины пика до полосы, получаемой от индексного отверстия. Далее вычисляли расстояние от границы седиментации до оси вращения ротора. На основании полученных данных строили график зависимости $\lg X$ от t . Определение коэффициента седиментации производили по формуле [12, 13]

$$S = [1/60 \cdot \omega^2] \cdot (\Delta \lg X / \Delta t) = [2,303 / (60 \cdot \omega^2)] \cdot (\Delta \lg X / \Delta t).$$

Величину $2,303 / (60 \cdot \omega^2)$ находили по таблице, а $\Delta \lg X / \Delta t$ определяли как тангенс угла наклона кривой на графике зависимости $\lg X$ от t .

При центрифугировании низкомолекулярного РНП в комбинированном градиенте концентрации NaCl — CsCl обнаружен еще более низкомолекулярный РНП, содержание которого настолько мало, что при использовании традиционных методов аналитического центрифугирования невозможно определить коэффициент седиментации. В этом случае использовали кювету с камерой, в которой находился 2 М CsCl. Исследуемый материал наслаивали на 2 М CsCl и при центрифугировании при 40000 об/мин РНП концентрировался узкой полосой. Коэффициент седиментации определяли по вышеприведенной формуле с поправкой на 2 М CsCl.

Для определения молекулярной массы (м. м.) просом исследуемый материал диализовали против буферного раствора (0,01 М триэтанолламин-HCl, pH 7,4, 0,5 М NaCl, 0,007 М 2-меркаптоэтанол) и наносили на комбинированный градиент NaCl — CsCl (плотность NaCl от 1,03 до 1,3 г/см³, CsCl — от 1,2 до 1,6 г/см³, взятый в соотношении 0,8 : 1,0 и приготовленный на том же буфере. Центрифугировали при 30000 об/мин на протяжении 19 ч в роторе SW 40 («Beckman»). При определении м. м. исследуемых структур использовали стандарты углеводной природы — декстраны фирмы «Fluka» с м. м. 13,7, 20, 110, 500 кДа и 2 МДа [14]. Искомые фракции определяли по Брэдфорду [15].

Молекулярную массу просомных белков определяли фракционированием их в градиентном (8—20 %) ПААГ в денатурирующих условиях по [16]. В качестве белков-маркеров использовали стандартные смеси фирмы «Pharmacia»: фосфоорилаза — 94000, альбумин — 67000, овальбумин — 43000, карбоник-ангидраза — 30000, трипсин-ингибитор — 20100, лактальбумин — 14000 Да.

РНК просом выделяли по [17], затем анализировали ее фракционированием в 5 %-м ПААГ в трис-боратном буфере, pH 8,3, в присутствии 6 М мочевины [18]. Маркерами служили транспортная РНК («Sigma», США, Type XX from *Escherichia coli*, strain W) и ксиленианол, миграция в геле которого составляет 80 % от таковой тРНК. Электрофорез проводили при напряжении 180 В в течение 4 ч. Затем гель фиксировали (30 мин) 0,4 М ацетатом натрия, pH 4,7, и окрашивали 0,1 %-м раствором толуидинового синего в 0,4 М ацетате натрия (30 мин), отмывали дистиллированной водой.

Результаты и обсуждение. Полисомные и свободные цитоплазматические мРНП, имеющие максимум поглощения при длине волны 260 нм и

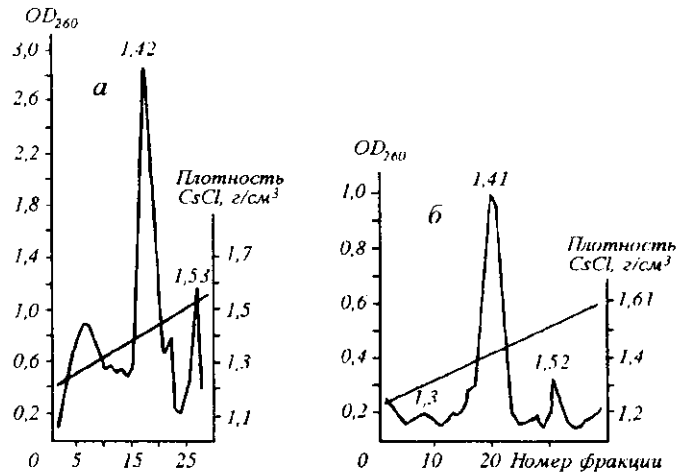


Рис. 1. Плавающая плотность свободных цитоплазматических мРНК (а) и полисомных мРНК в преформированном градиенте CsCl (б)

значение плавучей плотности 1,41 и 1,42 г/см³ соответственно, которые практически не содержали рибосом и прочих клеточных элементов, использовали для выделения низкомолекулярных РНП (просом) (рис. 1). В условиях многократного фракционирования в градиентах, содержащих различные концентрации солей, а также 1 %-й лаурилсаркозинат натрия, были выделены структуры 19 S. Следует отметить, что выделение просом с применением нескольких сахарозных градиентов на разных буферных растворах и использование на конечном этапе очистки сахарозного градиента с 1 %-м лаурилсаркозинатом натрия позволяют создать условия, при которых лишь низкомолекулярные 19 S частицы остаются стабильными (рис. 2). Кроме того, изолирован низкомолекулярный РНП с коэффициентом седиментации 10 S, концентрация которого была столь мала, что пришлось использовать значительное количество исходного материала для ее накопления. Данная структура седиментировала в 2 М CsCl при 40000 об/мин узкой полосой (рис. 3).

Следует отметить, что низкомолекулярные РНП, или просомы, были обнаружены в различных клетках эукариот. Так, РНП-частицы с коэффициентом седиментации 19—20 S были выделены из культуры клеток HeLa, из эритроцитов человека, печени крысы [1], эритробластов утки [19], клеток утки и мыши [3], из листьев табака *Nicotiana rustica* [20] и листьев шпината *Spinacia oleracea* [21], из архебактерии *Thermoplasma acidophilum*

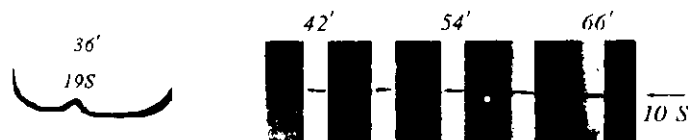


Рис. 2. Седиментограмма просом 19 S. Интервал съемки 6 мин; 48 000 об/мин

Рис. 3. Седиментограмма просом 10 S в 2 М CsCl. Интервал съемки 6 мин; 40 000 об/мин

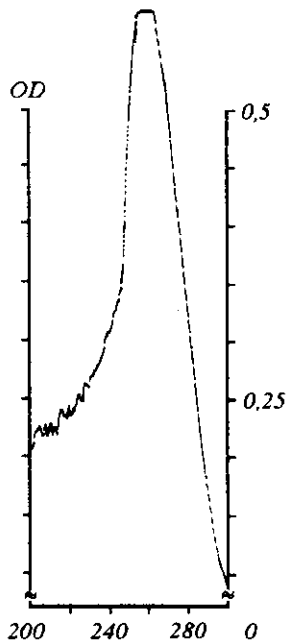


Рис. 4. УФ-спектр просом

[22] и т. д. Обнаруженный нами низкомолекулярный РНП известен в литературе, как ингибиторный РНП [23, 24].

Кроме того, проведена работа по выявлению просом в составе мРНП полисом из здоровых и инфицированных X-вирусом картофеля растений. Однако в результате проведенных исследований с привлечением большого количества препаративного материала нам не удалось выявить низкомолекулярный РНП в составе мРНП полисом. Это свидетельствует о том, что низкомолекулярный РНП как 19 S, так и 10 S присутствует только в свободных цитоплазматических мРНП (не связанных с рибосомами).

Необходимо подчеркнуть, что в процессе отработки методов выделения низкомолекулярных РНП после каждого этапа очистки исследовали спектрофотометрически структуры. Максимум поглощения в ультрафиолетовом свете для просом соответствовал длине волны 260 нм (рис. 4).

Значение плавучей плотности выделенных структур в преформированном градиенте Cs_2SO_4 DMSO равно $1,31 \text{ г/см}^3$ (рис. 5, а). Плавучая плотность просом в преформированном градиенте CsCl соответствовала $1,43 \text{ г/см}^3$ (рис. 6, б), т. е. выделенные структуры принадлежат к классу информосом и имеют характеристики, присущие просомам [1, 3, 24].

Для определения молекулярной массы просом использовали фракции РНП после определения их плавучей плотности в преформированном градиенте Cs_2SO_4 DMSO и отдиализованные против буфера II. Использо-

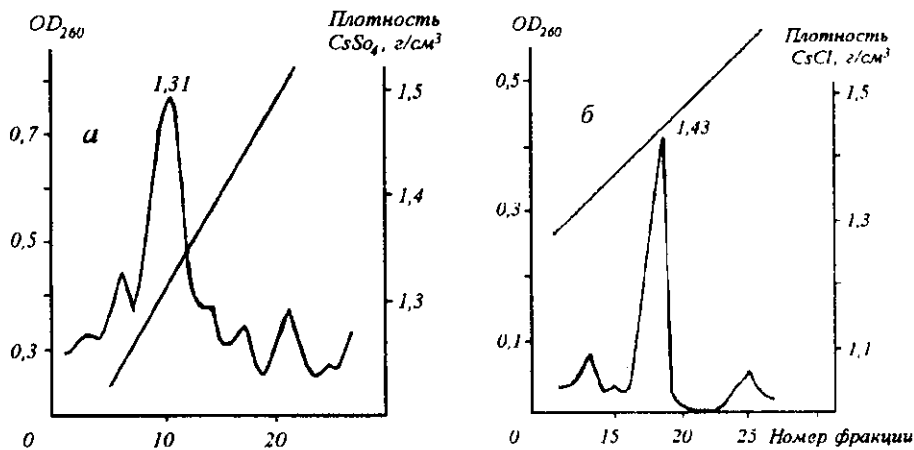


Рис. 5. Плавучая плотность просом в преформированном градиенте Cs_2SO_4 DMSO (а) и CsCl (б)

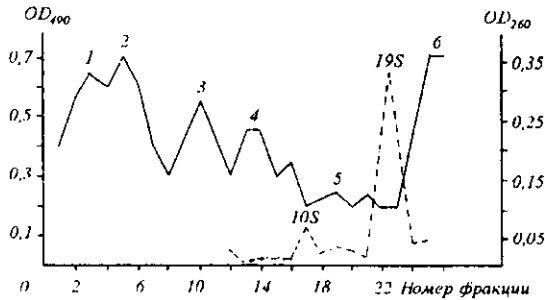


Рис. 6. Определение молекулярной массы просом: 1—20; 2—40; 3—70; 4—100; 5—500 кДа; 6—2 МДа

ние комбинированного градиента солей NaCl и CsCl позволяет успешно разделить низкомолекулярные (до 500 кДа) и высокомолекулярные (от 500 кДа до 2 МДа) фракции. Применение стандартов значительно упрощает определение молекулярных масс, не требует расчетов гидродинамических параметров. Молекулярную массу рассчитывали по уравнению Сведберга. Рассчитанные значения молекулярных масс декстранов не отличается от значений, указанных фирмой-изготовителем [14]. Полученные результаты представляют собой кривые молекулярно-массового распределения, откуда следует, что м. м. просом 19 S равна 700—800, а просом 10 S — около 400 кДа (рис. 6). Приведенные нами данные согласуются с литературными. Так, авторы работы [1] показали, что 19 S-комплекс из клеток животных имеет м. м. 700 кДа, из листьев шпината — 850 [21], из архебактерии — 650 кДа [22].

Белковый состав просом из здоровых и инфицированных X-вирусом картофеля растений дурмана на 3-й и 14-й день после инокуляции анализировали методом электрофореза в ПААГ. В результате проведенных анализов выяснилось, что просомы из здоровых растений содержат белки с м. м. 17, 20, 22, 24, 27, 32, 36, 39, 43 кДа (рис. 7). В просомах, выделенных из информсомом, пораженных ХВК растений дурмана на 3-й день после инокуляции, выявляются белки с м. м. 20, 24, 27, 36, 39, 43, 48, 54 и 60 кДа (рис. 8, а). Просомы, выделенные из информсомом листьев дурмана на 14-й день после заражения, имеют следующий набор белков: 20, 24, 27, 39, 43, 48, 54, 60, 83 кДа (рис. 8, б). Необходимо отметить, что набор белков просом здоровых растений отличается от таковых инфицированных расте-

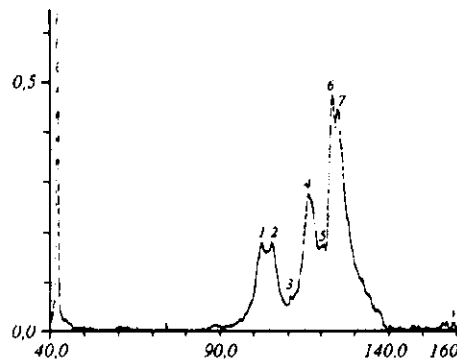


Рис. 7. Денситограмма электрофореза белков просом из здоровых растений дурмана

ний, а именно: белки с м. м. 52, 60 и 83 кДа содержатся только в просомах инфицированных растений дурмана. Однако белок с м. м. 83 кДа присутствует в просомах, изолированных из растений с ярко выраженными симптомами вирусной инфекции (14-й день после заражения) (таблица).

Особый интерес представляет просомный белок с м. м. 39 кДа. Ранее мы предположили, что этот белок с м. м. 39 кДа явля-

Состав белков просом*

Здоровые растения	Инфицированные ХВК растения дурмана на	
	3-й день инфекции	14-й день инфекции
—	—	83
—	60	60
—	54	54
—	48	48
43	43	43
39	39	39
36	36	—
32	—	—
27	27	27
24	24	24
22	—	—
20	20	20
17	—	—

*Молекулярная масса приведена в кДа.

ется белком-репрессором в составе свободных информсом [25]. Следует отметить, что он находится в составе всех просом, выделенных из здоровых и зараженных растений. Нами установлено, что белок 39 кДа является клеточным белком, который способен фосфорилироваться. Это является важным свидетельством того, что он выполняет регуляторные функции [26].

Как упоминалось ранее, белок ХВК прочно связан с мРНК в составе мРНП (информсом) [27, 28]. В просомах также обнаружены полипротеины (24—27 кДа), близкие по м. м. вирусному белку. Однако иммунологический анализ показал, что просомы, изолированные из пораженных ХВК растений, в отличие от свободных цитоплазматических информсом, не содержат структурный вирусный белок. Из литературы известно, что малые цитоплазматические РНП 10 S содержат кэп-структуру и идентифицированы кэп-связанные белки с м. м. от 24 до 29 кДа. Можно предположить, что белки с м. м. 24—27 кДа являются кэпсвязанными белками. В основном

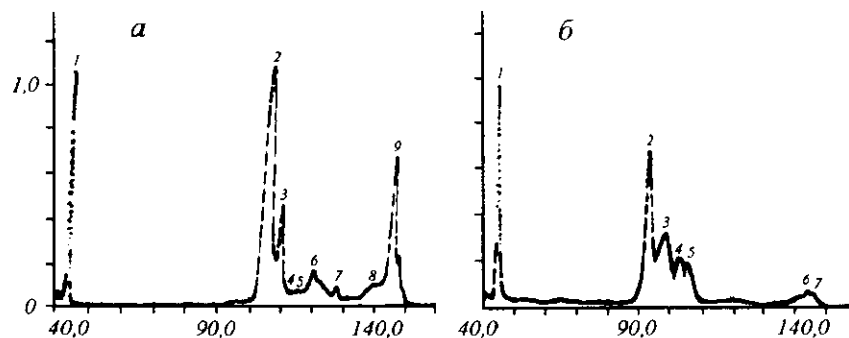


Рис. 8. Денситограмма и электрофореграмма белков просом из растений дурмана, инфицированных ХВК: а — 3-й день после инокуляции б — 14-й день 19 S (1а) и 10S (1б)

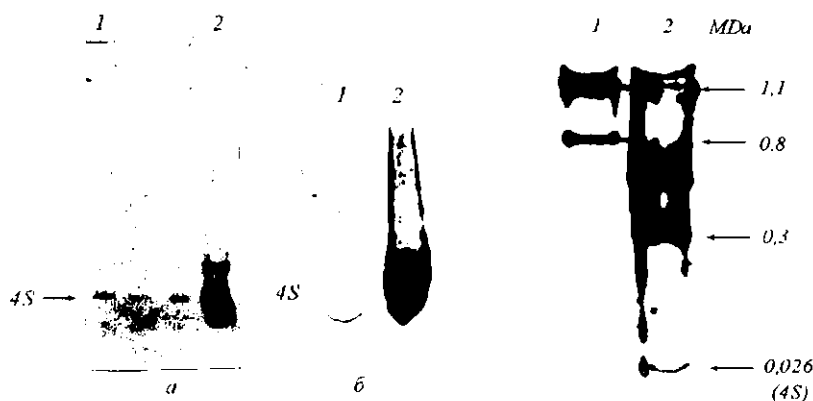


Рис. 9. Электрофореграммы РНК просом 19 S (а, дорожка 1), 10 S (б, дорожка 1) и тРНК (а, б, дорожка 2)

Рис. 10. Электрофореграмма информосомных РНК: 1— вируса мозаики костра; 2— свободных цитоплазматических информосом

белки просом динамичны, могут менять свою м. м. в процессе протеолиза, что является одним из необходимых звеньев в регуляторных процессах [24, 29, 30].

Анализ просомной РНК в 5 %-м ПААГ показал, что она соответствует 4 S (рис. 9). Низкомолекулярную РНК выделяли из просом, полученных, в свою очередь, из информосом. Процесс выделения сопровождался сложными циклами очистки. Как было отмечено выше, каждый этап выделения тщательно контролировался, тем более, что при исследовании РНК свободных информосом выяснилось, что указанная низкомолекулярная РНК 4 S входит в ее состав (рис. 10). Этот факт находит свое подтверждение в литературе. Так, в работе [3] показано, что низкомолекулярный РНП ассоциирован с репрессированными мРНК (т. е. с мРНК свободных цитоплазматических мРНП) и содержит низкомолекулярную РНК 4 S (ScRNA), состоящую из 70—80 нуклеотидов. Низкомолекулярная просомная РНК 4 S была обнаружена в различных организмах, в том числе и в просомах, выделенных из растений [19, 20, 31, 32]. Показано также, что 4 S РНК, изолированная из просом, подавляет трансляцию как экпированной, так и неэкпированной мРНК в бесклеточной системе белкового синтеза. Экспериментально доказано, что РНК просом гибридизуется с вирусными, но не с клеточными РНК [33].

Следует отметить, что просомы, изолированные из здоровых и инфицированных ХВК растений дурмана, отличались по белковому составу. Однако по остальным физико-химическим характеристикам (молекулярной массе, плавучей плотности, содержанию 4 S РНК) были идентичными. Обнаруженные и выделенные нами низкомолекулярные РНП, или просомы, выявляются только в свободных цитоплазматических мРНП (информосомах) и отсутствуют в полисомосвязанных мРНП, что является основанием для предположения об их ингибиторных функциях на уровне трансляции. А поскольку природа репрессора трансляции окончательно не установлена, большой интерес представляет изучение функциональных особенностей белков просом и связанной с ними низкомолекулярной РНК.

Авторы благодарны Ф. И. Товкачу (Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, Киев) за помощь в определении плавучей плотности просом 10 S.

Н. Й. Пархоменко, Л. Ф. Діденко, Л. О. Максименко

Фізико-хімічні властивості просом листя дурману (*Datura stramonium L.*), уражених X-вірусом картоплі

Резюме

Ізольовано низькомолекулярні РНП, або просоми, з коефіцієнтом седиментації 19 і 10 S, які виявляються тільки у вільних цитоплазматичних мРНП і відсутні в мРНП полісом. Молекулярна маса просом 19 S дорівнює 700—800, просом 10 S — 400 кДа. Значення плавучої густини виділених структур у преформованому градієнті концентрації Cs_2SO_4 у DMSO відповідає $1,31 \text{ г/см}^3$. Визначено білковий склад просом із здорових і інфікованих X-вірусом картоплі рослин. Із препарату просом виділено низькомолекулярну 4 S РНК.

N. I. Parkhomenko, L. F. Didenko, L. A. Maximenko

Physicochemical properties of prosomes from leaves *Datura stramonium L.* infected potato virus X

Summary

Low-molecular RNP or prosomes with sedimentation coefficient of 19 S and 10 S, which are being discovered only in cytoplasmatic mRNPs are absent in mRNP polysomes are isolated. The value of buoyant density of extracted structures in preformed gradient Cs_2SO_4 DMSO corresponds to $1,31 \text{ g/cm}^3$. On the basis of healthy and infected by potato virus X plants the protein composition of prosomes is defined. From prosomes preparation the low-molecular 4 S RNA is extracted.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Arrigo A. P., Tanaka K., Goldberg A. L., Welch W. J. Identify of the 19S «prosome» particle with the large multifunctional protease complex of mammalian cells (the proteasoma) // Nature.—1988.—331, N 1.—P. 192—194.
2. Civelli O., Vincent A., Maundrell K. et al. The translation repression of globin mRNA in free cytoplasmic ribonucleoprotein complexes // Eur. J. Biochem.—1980.—107, N 3.—P. 577—585.
3. Schmid H.-P., Akhayat O., De Sa C.M. et al. The prosome: an ubiquitous morphologically distinct RNP particle associated with repressed mRNPs and containing specific ScRNA and a characteristic set of proteins // The EMBO J.—1984.—3, N 1.—P. 29—34.
4. Vincent A., Goldenberg S., Scherrer K. Comparisons of proteins associated with duck globin mRNA and its polyadenylate segment in polyribosomal and repressed messenger ribonucleoprotein complexes // Eur. J. Biochem.—1981.—114, N 2.—P. 179—193.
5. Jackson A. O., Larkins B.A. Influence of ionic strength, pH and chelating of divalent metals on isolation of polyribosomes from tobacco leaves // Plant Physiol.—1976.—57.—P. 5—10.
6. Aithozhin M. A., Akhanov A. U., Doschanov Kh. I. Release of mRNP-particles of the informosome type from polyribosomes of higher plants embryos // FEBS Lett.—1974.—41, N 2.—P. 275—279.
7. Takaiwa F., Tanifuji S. Relationship between translation-control and reduced polyadenylation of mRNA in elongated roots of pea seedlings // Plant and Cell Physiol.—1979.—20, N 5.—P. 885—897.
8. Дорохов Ю. Л., Александрова Н. М., Мирошниченко Н. А., Атабеков И. Г. Обнаружение внутриклеточных рибонуклеопротеидных частиц при инфицировании табака температурочувствительным мутантом Ni 118 вируса табачной мозаики // Биол. науки.—1980.—N 6.—С. 22—28.
9. Greenberg J. K. Isolation of messenger ribonucleoproteins in cesium sulfate density gradients: Evidence that polyadenylated and nonpolyadenylated messenger RNAs are associated with protein // J. Mol. Biol.—1976.—108, N 2.—P. 403—416.
10. Остерман Л. А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот // М.: Наука, 1981.—С. 250.
11. Белицина Н. В., Овчинников Л. П., Спирин А. С. и др. Информосомы клеток HeLa, зараженные вирусом осповакцины // Молекуляр. биология.—1968.—№ 2.—С. 727.
12. Шкипитер В. О. Методы исследования биополимеров с помощью ультрацентрифугирования // Современ. методы в биохимии.— М, 1964.— Том 1.—С. 15—37.
13. Практикум по общей вирусологии / Под ред. И. Г. Атабекова.— М.: Изд-во МГУ, 1981.—С. 94—95.
14. А. с. № 1451166. Способ определения молекулярно-массовой неоднородности микробных полисахаридов / Воцелко С. Л., Пирог Т. П., Малашенко Ю. Р., Гринберг Т. А. // Оpubл. 1988.

15. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilising the principle of protein dye binding // *Anal. Biochem.*—1976.—72, N 1.—P. 248—254.
16. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature.*—1970.—227, N 5259.—P. 680—685.
17. Steele K. P., Frist R. H. Characterization of the 3-termini of the RNAs of cowpea mosaic virus // *J. Virol.*—1978.—26, N 2.—P. 243—248.
18. Peacock A. B., Dingman C. W. Revolution of multiple ribonucleic acid species by polyacrylamide gel electrophoresis // *Biochemistry.*—1967.—6, N 6.—P. 1818—1827.
19. Vincent A., Civelli O., Maundrell K., Scherrer K. Identification and characterization of the translationally repressed cytoplasmic globin mRNP particles from duck erythroblasts // *Eur. J. Biochem.*—1980.—112, N 3.—P. 617—633.
20. Kremp A., Schliephacke M., Kull U., Schmid H.-P. Prosomes exist in plant cells too // *Exp. Cell Res.*—1986.—166, N 2.—P. 553—557.
21. Ozaki M., Fujinami K., Tanaka K. et al. Purification and initial characterization of the proteasome from the higher plant *Spinacia oleracea* // *J. Biol. Chem.*—1992.—267, N 30.—P. 21678—21684.
22. Dahlmann B., Kuehn L., Grziwa A. et al. Biochemical properties of the proteasome from *Thermoplasma acidophilum* // *Eur. J. Biochem.*—1992.—208, N 3.—P. 789—797.
23. Sarkar S., Mukherjee A. K., Gina C. A Ribonuclease-resistant cytoplasmic 10S ribonucleoprotein of chick embryonic muscle (a potent inhibitor of cell-free protein synthesis) // *J. Biol. Chem.*—1981.—256, N 10.—P. 5077—5086.
24. Mukherjee A. K., Sarkar S. The translational inhibitor 10S cytoplasmic ribonucleoprotein of chick embryonic muscle // *Ibid.*—N 21.—P. 11301—11306.
25. Диденко Л. Ф., Максименко Л. А., Пархоменко Н. И. и др. Исследование состава белков информосом различной клеточной локализации в растениях *Datura stramonium*, пораженных X-вирусом картофеля // *Микробиол. журнал.*—1989.—51, № 4.—С. 36—44.
26. Диденко Л. Ф., Максименко Л. А., Пархоменко Н. И. Фосфорилирование *in vitro* белков информосом из листьев дурмана, инфицированного X-вирусом картофеля // *Там же.*—1993.—55, № 2.—С. 68—74.
27. Краев В. Г., Диденко Л. Ф., Пархоменко Н. И. Иммунологический анализ белков мРНП, выделенных из листьев дурмана, пораженных X-вирусом картофеля // *Там же.*—1984.—6, № 3.—С. 64—68.
28. Пархоменко Н. И., Диденко Л. Ф., Краев В. Г. Связь белков с мРНК в составе мРНП, обнаруженных в листьях дурмана, инфицированного X-вирусом картофеля // *Там же.*—1985.—46, № 6.—С. 61—64.
29. Greenberg J. R. The polyribosomal mRNA-protein complex is a dynamic structure // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.*—1981.—78, N 6.—P. 2923—2936.
30. Sonenberg N. ATP/Mg²⁺-dependent cross-linking of cap binding proteins to the 5-end of eukaryotic mRNA // *Nucl. Acids Res.*—1981.—9, N 5.—P. 1643—1656.
31. Kuhn B., Villringer A., Falk H., Heinrich P. C. Inhibition of cell-free protein synthesis by low-molecular-weight RNAs from free cytoplasmic ribonucleoprotein particles // *Eur. J. Biochem.*—1982.—126.—P. 181—188.
32. Horsch A., Kohler K., Ellwart-Tschuzz M., Schmid H.-P. Selection of prosomes and prosomal RNA by immobilized viral RNAs // *FEBS Lett.*—1990.—269, N 2.—P. 336—340.
33. Horsh A., Kohler K., Schmid H.-P. Prosomes are involved in the repression of the viral mRNA // *Z. Naturforsch.*—1985.—40, N 5—6.—P. 449—450.